

【 280 】

氏名 宮 本 陽 子

授与した学位 博 士

専攻分野の名称 農 学

学位授与番号 博甲第2401号

学位授与の日付 平成14年 3月25日

学位授与の要件 自然科学研究科エネルギー転換科学専攻  
(学位規則第4条第1項該当)学位論文の題目 REGULATION OF ENDOMETRIAL PROSTAGLANDIN F2 $\alpha$   
SECRETION IN CATTLE: ROLE OF TUMOR NECROSIS FACTOR- $\alpha$   
(ウシ子宮内膜のプロスタグランジンF2 $\alpha$  分泌調節における腫瘍  
壊死因子の生理的役割)

論文審査委員 教授 奥田 潔 教授 丹羽 皓二 教授 近藤 康博

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

反芻動物の子宮内膜より分泌されるプロスタグランジン (PG) F2 $\alpha$  は黄体退行因子として知られているが、その分泌調節機構の詳細については未だ不明な点が多く残されている。一方、ヒトおよびマウスの子宮内膜に腫瘍壊死因子 (TNF $\alpha$ ) のmRNA発現が確認され、その発現量は発情周期の後期に最も多くなること、さらに、TNF $\alpha$  がヒトおよびラットの培養子宮内膜細胞のPGF2 $\alpha$  分泌を促進することが明らかにされ、TNF $\alpha$  がPGF2 $\alpha$  分泌促進因子として黄体退行に関与する可能性が示唆されている。本研究では、ウシ子宮におけるPGF2 $\alpha$  分泌調節機構へのTNF $\alpha$  の関与について検討する目的で、発情周期各期のウシ子宮内膜におけるTNF $\alpha$  レセプター発現についてラジオレセプターアッセイを用いて検討するとともに、発情周期各期の子宮内膜組織のPGF2 $\alpha$  分泌におよぼすTNF $\alpha$  の影響について、組織培養系を用いて検討した。その結果、発情周期を通じて1) ウシ子宮内膜にTNF $\alpha$  レセプターの存在すること、2) TNF $\alpha$  はウシ子宮内膜のPGF2 $\alpha$  分泌を促進することが明らかとなった。次に、ウシ子宮内膜における、TNF $\alpha$  のPGF2 $\alpha$  分泌促進作用の標的細胞およびその細胞内シグナル伝達経路について、細胞培養系を用いて検討した。その結果、3) ウシ子宮内膜におけるTNF $\alpha$  のPGF2 $\alpha$  分泌促進作用の標的は間質細胞であること、さらに、4) その作用はフォスホリパーゼA2およびinducible NO合成酵素の活性化を介していることが示唆された。本実験において、TNF $\alpha$  のPGF2 $\alpha$  分泌促進作用は黄体退行開始前である Days 15-17の子宮内膜においても認められたことから、TNF $\alpha$  がウシ子宮内膜のPGF2 $\alpha$  分泌の開始に関与する可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、ウシ子宮における腫瘍壊死因子 (TNF $\alpha$ ) の生理的役割を知るための基礎研究として実施された一連の実験から得られた以下のような成果をまとめたものである。

1) 発情周期各期にあるウシ子宮から採取した子宮内膜組織片を振盪培養し、プロスタグランジン (PG) F2 $\alpha$  分泌におよぼす TNF $\alpha$  およびオキシトシンの影響を検討した。その結果、オキシトシンの PGF2 $\alpha$  分泌促進作用は排卵日 (Day 0) を中心とした Days 19-21、Day 0 および Days 2-3 の子宮内膜においてのみ認められたのに対し、TNF $\alpha$  は検討した全てのステージにおいて PGF2 $\alpha$  分泌を促進した。さらに、Days 19-21 において、TNF $\alpha$  はオキシトシンと比較して強い PGF2 $\alpha$  分泌促進作用を示した。2) 発情周期各期にあるウシ子宮から採取した子宮内膜組織の TNF $\alpha$  レセプターについて検討した。その結果、ウシ子宮内膜における TNF $\alpha$  レセプターの親和性は発情周期を通じて有意な変化が認められなかったが、濃度は Days 2-3 において黄体期の他のステージと比較して有意に低かった。3) TNF $\alpha$  の PGF2 $\alpha$  分泌促進作用の標的を明らかにする目的で、ウシ子宮内膜を構成する上皮細胞および間質細胞を単離培養し、それぞれの細胞の PGF2 $\alpha$  分泌におよぼす TNF $\alpha$  の影響について検討した。その結果、間質細胞の PGF2 $\alpha$  分泌は TNF $\alpha$  の添加濃度および刺激時間依存的に増加したが、上皮細胞の PGF2 $\alpha$  分泌におよぼす TNF $\alpha$  の影響は認められなかった。4) ウシ子宮内膜における TNF $\alpha$  の細胞内シグナル伝達経路について培養間質細胞を用いて検討した。その結果、TNF $\alpha$  の PGF2 $\alpha$  分泌促進作用は phospholipase (PL) A2 活性阻害剤または nitric oxide synthase (NOS) 活性阻害剤により阻害された。一方、PLC 活性阻害剤および inducible NOS 活性阻害剤は TNF $\alpha$  の PGF2 $\alpha$  分泌促進作用に影響をおよぼさなかった。以上の研究により、発情周期を通じてウシ子宮内膜に TNF $\alpha$  の特異的なレセプターの存在すること、TNF $\alpha$  はそのレセプターを介してウシ子宮内膜の PGF2 $\alpha$  分泌を促進することが明らかとなった。また、ウシ子宮内膜における TNF $\alpha$  の PGF2 $\alpha$  分泌促進作用の標的は間質細胞であること、さらに、その作用は PLA2 および inducible NOS の活性化を介していることが示唆された。本実験において、TNF $\alpha$  の PGF2 $\alpha$  分泌促進作用は黄体退行開始前である Days 15-17 の子宮内膜においても認められたことから、TNF $\alpha$  がウシ子宮内膜の PGF2 $\alpha$  分泌の開始に関与する可能性が示唆された。

これらの知見は、ウシ子宮機能調節における TNF $\alpha$  の生理的役割の解明に寄与するのみならず、子宮の機能性疾患に起因する不妊症の診断、治療法開発のための基礎資料として極めて興味深いものである。本学位審査会は、これらの成果をまとめた本論文の内容および参考文献を総合的に審査し、本論文が博士（農学）の学位に値するものと判断した。